

**IDENTIFICACIÓN, MEDIANTE TÉCNICAS MOLECULARES, DE *QUERCUS LUSITANICA* LAM. Y
ESTUDIO DE TÉCNICAS DE PROPAGACIÓN COMO BASE PARA LA CONSERVACIÓN DE ESTA
ESPECIE.**

**Ramón Fernández Rodríguez¹, Carla Faria², Joana Matzen³, Fernanda Simões³, María
Helena Almeida², José Matos³, Antonio Rigueiro Rodríguez⁴**

¹narci@isa.utl.pt

²Instituto Superior de Agronomia. Dep. Eng. Florestal, Tapada da Ajuda, 1349-017 LISBOA

³INETI - Inst. Nac. Eng., Tecnol. e Inovação. Dep. Biotecnologia. Grupo de Biología
Molecular. Edifício E - 1º andar. Estrada do Paço do Lumiar, 22.1649-038 LISBOA

⁴Universidade de Santiago de Compostela, Escola Politécnica Superior de Lugo, calle
Bernardino Pardo Ouro s/n 27002,

RESUMEN

El *Quercus lusitanica* Lam. (*Quercus fruticosa* Brot.), es el representante arbustivo de los robles marcescentes y caducifolios de la Península Ibérica. Es una especie ibero mauritana cuya presencia en Portugal y Galicia se reduce a pequeñas manchas aisladas debido a: Incendios forestales; repoblaciones forestales con pinos y eucalipto; ramoneo y pastoreo de ganado doméstico y herbívoros silvestres; despoblación y abandono del medio rural (asfixia del matorral); retrogresión (regresión por hibridación con otras especies afines); herborización y recolección mediante arranque; expansión de especies foráneas invasoras (acacias). Así, *Quercus lusitanica* Lam. como endemismo ibero-occidental africano se puede considerar en peligro de extinción, y por extensión una de las especies que sería imprescindible conservar.

Para los diferentes ensayos, el material vegetal fue recolectado en el Parque Sintra-Cascais (Lisboa, Portugal) a excepción de los estudios de propagación sexual que estudió también material del Parque de Arrábida (Lisboa, Portugal). Se desarrollaron métodos de propagación asexual (estaquillado) que estudiaron la respuesta de la planta a diferentes concentraciones hormonales y sustratos. El estudio de la propagación sexual de la Carvalhiça estudió la capacidad germinativa de dos orígenes diferentes (Parque Sintra-Cascais y Parque de Arrábida.). Paralelamente, estudios moleculares desarrollaron la identificación de la variabilidad genética de la quejigueta a través de la utilización de RAPDs.

En los estudios asexuales la Carvalhiça se reprodujo con éxito moderado (en torno a un 20% del total) y constataron la influencia del factor individuo independientemente del tratamiento al que fuera sometido. En el ensayo propagativo sexual, la capacidad germinativa de las bellotas varió notablemente entre los orígenes (52%, en Sintra-Cascais y 98% en Arrábida)

Los estudios de RAPD utilizando muestras de *Quercus lusitanica* e de *Quercus suber* para comparación son preliminares e más muestras tienen que ser analizadas. Se presenta una fuerte variabilidad genética de los individuos estudiados e se identificaron un grupo de Carvalhiças “más cerca” genéticamente del *Q. suber* que de su especie.

El estudio pretendió tomar conciencia del valor ecológico del carballo añón, la necesidad de tomar medidas urgentes a efectos de conservación. Los estudios de propagación intentaron orientar y promover la investigación de la reproducción del arbusto por vía sexual o asexual con vistas a su conservación. Los estudios genéticos confirmaron la variabilidad genética de esta especie. y representaron un primer paso en el abordaje de la conservación de los recursos genéticos de la quejigueta.

INTRODUCCIÓN

El *Q. lusitanica* Lam. (*Quercus fruticosa* Brot.) es un arbusto estolonífero que raramente supera los tres metros y que frecuentemente no pasa de ser una mata de 30 cm. Corteza lisa

ceniciento-blanquecina, ramitas tomentosas o glabrescentes, yemas de 1,5-3 mm, pubescentes o glabras. Se distribuye desde Galicia hasta el sector biogeográfico tangerino, generalmente en áreas costeras hasta 600 m de altitud y sin penetrar mucho en el interior de la Península Ibérica, excepto en el valle del río Tajo (Rivas-Martínez & Sáenz, 1991, Barbero *et al.*, 1981). Es una especie considerada de media luz a media sombra, siendo claro que la aparición de la “Carvalhiça” está delimitada por la existencia de una cobertura arbustiva y/o arbórea, pues necesita de protección a la radiación solar. Las comunidades mejor desarrolladas han sido encontradas bajo masas de eucalipto, pino marítimo, pino piñonero y alcornoque.

Prefiere vivir sobre sustratos ácidos, en suelos silíceos limosos o arenosos podzolizados, y ha sido encontrada en suelos extraordinariamente pobres y con un horizonte A apenas desarrollado, lo que contrasta con el verdor intenso de sus hojas, hecho que lleva a pensar en su asociación con micorrizas endotróficas.

Bioclimáticamente tiene su óptimo en el piso termomediterráneo subhúmedo-húmedo. Gusta de climas suaves con precipitaciones medias elevadas, sobre los 800 mm de media (media anual de 1005 mm y de 1103 mm en las dos estaciones meteorológicas del área de estudio) siendo su principal factor limitante, las heladas.

Rivas-Martínez *et al.* (1990) propuso la alianza Frutici-Quercion para las comunidades dominadas por este pequeño arbusto: “La alianza *Quercion fruticosae* se encuentra incluida en el orden *Pistacio lentisci-Rhamnetalia alaterni* y clase *Quercetea ilicis*. Está constituida por cuatro asociaciones arbustivas dominadas por el *Quercus lusitanica* y que se desarrollan sobre el piso termomediterráneo sub-húmedo a húmedo pudiendo alcanzar el piso mesomediterráneo inferior con distribución gaditano-onubo-algarviense y tangerina. Vive en suelos silíceos derivados de arenas pobres en bases representantes de etapas regresivas de alcornocales termófilos. Algunas de estas asociaciones se solapan con comunidades de *Coremion albi*, *Ericion umbellatae* y *Stauracanthion boivinii*, con las cuales frecuentemente forman intrincados mosaicos. Generalmente, las comunidades dominadas por la quejigueta se sitúan en suelos menos erosionados, menos ácidos y con mayor contenido en humus “mull-moder” (con ericáceas y arbustos esclerófilos del orden *Pistacio-Rhamnetalia*)”. Las especies características de la alianza son: *Centaurea africana*, *Euphorbia transtagana*, *Quercus lusitanica* y *Serratula alcala*.

La peculiar especie que estudiamos, autóctona tanto de Portugal como de Galicia, puede considerarse hoy como una planta muy amenazada tanto en Galicia como en Portugal. En el año 2003, en la población gallega del Monte Pindo, António Rigueiro constató que “La disminución de esta especie se debe, casi por completo, a la intervención directa por parte del hombre. Es una especie relictica amenazada de la flora gallega que es importante proteger. Extinguida ya en varias zonas donde habitó en el pasado, las últimas y pequeñas poblaciones que aún sobreviven disminuyen de año en año a causa de la destrucción de su hábitat. Muy pronto será solo un recuerdo si no se toman medidas eficaces de protección. La especie no figura ni en el Catálogo Nacional de Especies Amenazadas (Real Decreto 439/1990 de 30 de Marzo de 1990) ni en el borrador del listado de flora amenazada de Galicia.”

El *Quercus lusitanica* Lam. (*Quercus fruticosa* Brot.) es el representante arbustivo de los robles marcescentes y caducifolios de la Península Ibérica, cuya presencia en Portugal y Galicia se reduce a pequeñas manchas aisladas debido a incendios forestales, repoblaciones forestales con pinos y eucalipto, ramoneo y pastoreo de ganado doméstico y herbívoros silvestres, despoblación y abandono del medio rural (asfixia del matorral), retrogresión (regresión por hibridación con otras especies afines), herborización y recolección mediante arranque, expansión de especies foráneas invasoras (acacias). Así, *Quercus lusitanica* Lam., como endemismo ibero-occidental africano, se puede considerar en peligro de extinción, y por extensión una de las especies que sería imprescindible conservar.

El presente artículo resulta del desarrollo de un Trabajo Final de Ingeniería de Montes de la Universidad de Santiago de Compostela. Los objetivos experimentales son: contribuir a la diferenciación de *Quercus lusitanica* Lam. por comparación con patrones obtenidos para otra especie del género *Quercus* e identificar la variabilidad de los individuos de la quejigüeta que crecen en el Parque Natural de Sintra-Cascais (Portugal), a través de la utilización de marcadores moleculares (*Random amplification of Polymorphic DNA* -RAPDs), contribuyendo simultáneamente a la conservación genética de esta especie. Paralelamente, evaluar la capacidad de reproducción sexual de la especie (capacidad de germinación de las semillas) y desarrollar metodologías de propagación asexual de la misma (estaquillado), pretendiendo conocer la capacidad del árbol para propagarse vegetativamente, así como los procesos biológicos inherentes a la propagación vegetativa de esta especie, proponiendo recomendaciones prácticas de reproducción y lanzando bases experimentales para trabajos posteriores.

MATERIALES Y MÉTODOS

PROPAGACIÓN VEGETATIVA

A 15 de Septiembre del año 2004, en el parque de Sintra-Cascais, se seleccionaron, de forma aleatoria, ramas fuertes, vigorosas y saludables de 10 individuos de *Q. lusitanica*, apartados más de 50 m para evitar la recolección en rebrotes del mismo individuo.

Se prepararon estacas semileñosas con 6-8 cm de longitud, se retiraron manualmente y con cuidado las hojas dejando uno o dos pares en función de criterios visuales y de la vigorosidad de la planta. Inmersión de los esquejes en una solución del fungicida BENOR (50% p/p de benomil) durante 5 minutos. Los esquejes fueron bañados en una solución hormonal (Ácido 3-indol-butírico), diluida hasta las concentraciones deseadas de 1% y 2 %. Las estacas fueron colocadas en contenedores con 40 alveolos, de 300 cm³ de capacidad individual, utilizándose dos tipos de sustrato, uno constituido por turba- perlita (1:1) y otro por turba, perlita y suelo del parque de Sintra-Cascais, en una proporción de 3:3:1. El ensayo tuvo lugar en un invernadero, con temperatura ambiente controlada entre los 20-25°C, riego periódico programado y ajustado a lo largo del ensayo de acuerdo con las necesidades de las plantas. En este ensayo, el sustrato fue calentado gracias a un sistema de calentamiento basal, conseguido por una manta tipo Ipetex, alcanzándose temperaturas variables entre los 23°C y 25°C en el sustrato.

El ensayo tuvo un diseño totalmente aleatorio, fueron estudiados 3 factores: el individuo, y dentro del individuo, la concentración de la hormona (1% y 2%) y el tipo de sustrato, turba-perlita (1:1) y turba-perlita-suelo (3:3:1). Se consideran 3 repeticiones por individuo y 5 estacas por repetición, totalizando 60 estacas para cada uno de los 10 individuos estudiados. Transcurridos tres meses del ensayo, el día 21 de Diciembre se evaluó el número de estacas enraizadas, considerándose la siguiente clasificación: a) estaca enraizada con hojas verdes; b) estaca enraizada pero seca; c) estaca no enraizada; d) estaca con *callus*.

Los efectos de los tratamientos en el % de enraizamiento y en la producción de *callus* fueron evaluados mediante el análisis de variancia, con un modelo jerarquizado con dos factores: concentración de la hormona y tipo de sustrato encajados en el factor individuo.

PROPAGACIÓN SEXUADA

Durante la 3ª semana del mes de Noviembre, la recolección de semilla fue efectuada en el Parque Natural de Sintra-Cascais, así como en el Parque Natural de Arrábida, en la zona de Fernão Ferro. Se constató que las disponibilidades de semilla eran bajas, más

acentuadamente en el área del Parque Natural de Sintra-Cascais. La recolección de las semillas se efectuó en el mayor número posible de individuos, realizándose de forma manual tanto en el suelo próximo a la planta como en la propia planta.

Se retiró el pericarpio de todas las bellotas con el objetivo de uniformizar las condiciones de la bellota para germinar, ya que la cosecha presentó diferentes estados de maduración entre las semillas recolectadas. Se consideraron 4 repeticiones con 20 bellotas, recogidas en el Parque Sintra-Cascais y 4 repeticiones de 20 bellotas, recogidas en el Parque de Arrábida. El test de germinación se realizó, según las reglas de la ISTA (2003) definidas para *Quercus* spp., en una cámara a una temperatura de 20°C en oscuridad, las diferentes repeticiones de las bellotas han sido colocadas en bandejas de plástico con arena esterilizada y distribuidas aleatoriamente en la cámara, siendo sujetas a riegos periódicos. El ensayo tuvo una duración de 28 días en el que se realizaron 4 evaluaciones cada 7 días contabilizándose el número de semillas germinadas, considerándose como semilla germinada aquella cuya radícula emergiese como mínimo 1 cm.

Los parámetros estudiados en los ensayos de la germinación de las bellotas son: la **Capacidad germinativa (C.G.)**, expresada en %, define el vigor de las semillas por unidad

de tiempo (28 días),
$$C.G. = \frac{n}{N}$$
, (siendo n el número de semillas germinadas al final del ensayo y N el número total de semillas) y el **Tiempo medio de germinación (T.M.G.)**,

$$T.M.G. = \frac{\sum_{i=1}^n (n_i - n_{i-1}) \times t_i}{N}$$

define la velocidad con la que las bellotas germinan, en que n_i es el número de bellotas germinadas en el tiempo t_i y N es el número total de bellotas germinadas i. Fue evaluado el efecto del origen de las semillas a través de la ANOVA.

ESTUDIOS MOLECULARES

La cosecha de las hojas utilizadas en el ensayo, se llevó a cabo la mañana del 15 de Septiembre del año 2004 en el parque de Sintra-Cascais. Se seleccionaron, de forma aleatoria, ramas fuertes, vigorosas y saludables de 24 arbustos, mayoritariamente de *Q. lusitanica*, pero también de *Q. pyrenaica*, *Q. coccifera* y *Q. suber*, recolectando 10 a 12 hojas juveniles por individuo, con un buen estado sanitario.

Para la extracción del DNA de las hojas se utilizó un extractor DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen), siguiéndose el protocolo de acuerdo con el fabricante. Fueron testadas varias diluciones para evitar la presencia de contaminantes, polifenoles principalmente (que inhiben la actividad de la enzima polimerasa). La amplificación de las cadenas fue efectuada por PCR (*Polymerase Chain reaction*), utilizando oligonucleótidos iniciadores (primers) para 20 marcadores aleatorios (RAPD). Fueron realizadas reacciones en duplicado para cada loci, para todas las muestras. Los componentes y respectivas cantidades por muestra son presentadas a continuación : 2 µl de dNTPs; 2,5 µl de Tampón 10X de la Taq polimerasa; 1,5 µl de MgCl₂ 50 mM ; 1 µl de BSA (0,4 µmol/ml); 25 pmol de cada iniciador (AP1-AP20), 0,3 µl Taq polimerasa (5 U/l) y 2 µl o 1 µl de ADN (cerca de 30 ng), para las primeras diluciones o segundas diluciones, respectivamente, en un volumen final de 25 µl.

El ADN ha sido amplificado en un termociclador PTC-100 (MJ Research, Inc), utilizando el programa RAPDBEAD con un proceso de 45 ciclos que incluye los siguientes pasos: Desnaturalización a 94°C (15 seg.), “Annealing” a 36°C durante 30 seg., Elongamiento a 72°C durante 1 min.

Los productos de PCR obtenidos para todas las muestras y con todos los primers, han sido analizados en un gel de electroforesis. Los diferentes productos genéticos o bandas fueron

clasificados como caracteres discretos en la forma 1 o 0 consonante a la ausencia o presencia de banda, construyendo así una matriz de clasificación total de las bandas de cada una de las muestras testadas. Los caracteres de la matriz se clasificaron a través del programa “*Freetree*” (Pavlicek A., Hrda S, Flerg.: *Freeware program for construction of phylogenetic trees on the basis of distance and bootstrap/jackknife analysis of the tree robustness*), utilizando los métodos de agrupación “UPGMA” y “Neighbor.Joining” y utilizando para cada método, 1000 repeticiones (“bootstrap”).

RESULTADOS

PROPAGACIÓN VEGETATIVA

En la figura 1 se presenta el porcentaje de enraizamiento de los diferentes individuos considerando los tratamientos testados. Como se comprueba en el gráfico, se constataron comportamientos diferentes entre los individuos. Los resultados del análisis de varianza indicaron que hay diferencias muy significativas a nivel del individuo ($P < 0,001$), habiendo también diferencias significativas relativamente a la concentración hormonal dentro de cada individuo ($p = 0.0326$). El test de comparación de medias indicó que la capacidad de enraizamiento de los individuos 2, 4 y 6 es significativamente superior a la de los individuos 3, 8, 9 y 10, los restantes individuos manifestaron un comportamiento intermedio. En un análisis más detallado al grupo de individuos con mejores resultados, se verificó que el factor concentración hormonal fue significativo sólo para el individuo 6 ($P = 0,0121$), indicando que la aplicación hormonal de 1% fue la más eficaz.

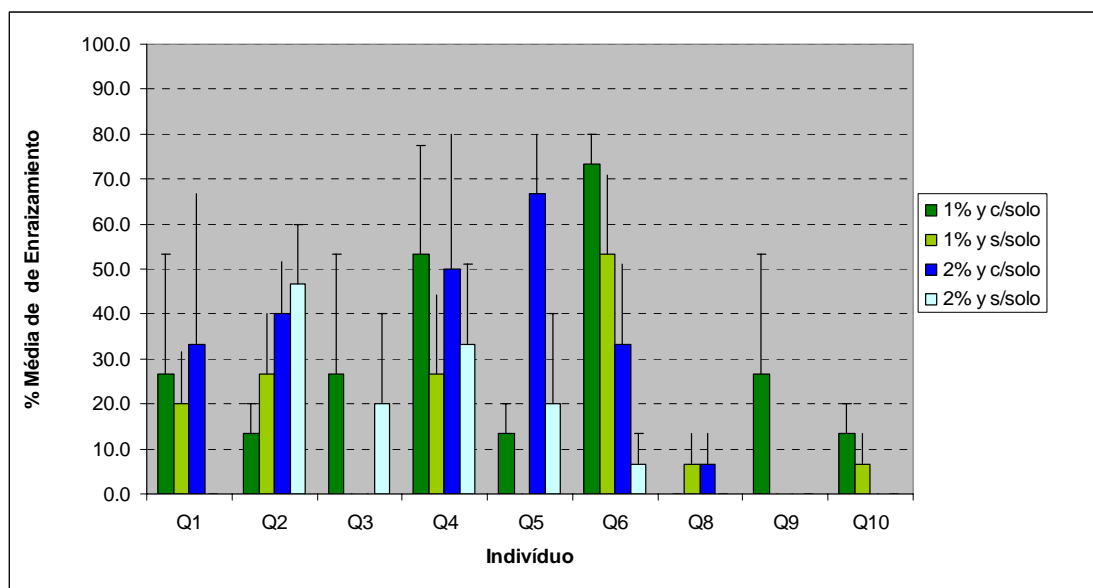


Figura 1 : Gráfico de la media de enraizamiento de los diferentes individuos

Por constatar que el número de estaquillas con *callus* es considerable, evaluamos su presencia en los diferentes individuos utilizando la misma metodología estadística que para el enraizamiento.

En la figura 2, se presentan los valores. Se verificaron diferencias muy significativas en el factor individuo ($p < 0,0001$), para los otros factores en estudio no se verificaron diferencias, para $\alpha = 5\%$. En la diferenciación de grupos de significado para el factor individuo, el individuo 1 se destaca de todos los otros.

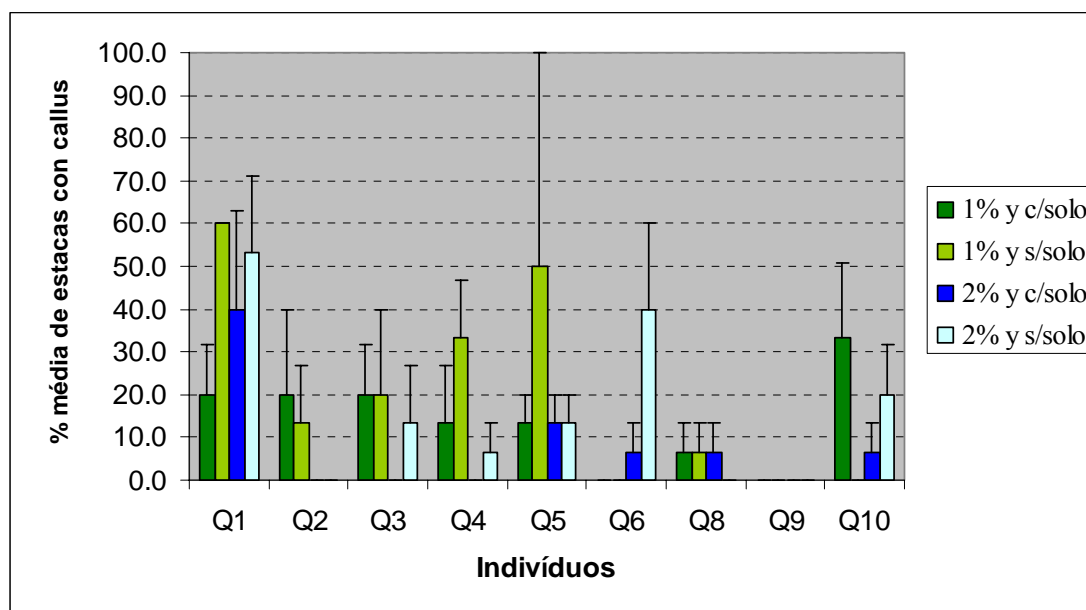


Figura 2 : Porcentaje medio de formación de *callus* en los diferentes individuos

PROPAGACIÓN SEMINAL

Después de 28 días de ensayo, los resultados de la capacidad germinativa y del tiempo medio de germinación, así como el análisis estadístico, se presentan en la tabla 1.

Tabla 1: Valores obtenidos para los 2 orígenes de semilla, **letras distintas** para el mismo parámetro significan diferentes grupos de significancia para $\alpha=5\%$.

	Origen	Valores
Capacidad germinativa media (muy significativo, $P=0,0024$, para $\alpha=5\%$)	Arrábida	$98,7 \pm 1,3$ a
	Sintra-Cascais	$52,5 \pm 7,2$ b
Tiempo medio de germinación (muy significativo, $P=0,0079$, para $\alpha=5\%$)	Arrábida	$15,2 \pm 0,42$ a
	Sintra-Cascais	$20,4 \pm 1,26$ b

ESTUDIOS MOLECULARES

De las 24 muestras iniciales fue posible extraer el DNA de 8 individuos de quejigueta (Q2, Q4, Q5, Q6, Q7, Q9, Q14, Q16). Se incluyeron 4 muestras de *Q.suber* L de la biblioteca genética del centro (SBA, TM, PS, AS). Fueron testados 20 *primers* de los cuales 10 (AP1, AP2, AP4, AP5, AP6, AP7, AP9, AP12, AP13 y AP14) presentaron polimorfismo y posibilidad de reproducción de bandas en el ensayo de RAPD's en todas las muestras. Después de elaborar PCR para todas las muestras y con todos los *primers* y analizados en un gel de electroforesis, se clasificaron las bandas (un total de 125 bandas para los 12 individuos en 10 *primers*) para crear la matriz de clasificación y para que el programa "*freetree*" generara los dendogramas de los dos métodos de agrupación el "UPGMA" y el "Neighbor-Joining".

Se procedió a la validación de los agrupamientos del árbol filogenético por el método de bootstrap con 1000 repeticiones. Los Dendogramas para cada método se representan en las dos siguientes figuras 3 y 4. En cada árbol deberán venir sólo representados los soportes estadísticos mayores o iguales al 50%, o mejor todavía, mayores o iguales a 70%

El UPGMA calcula el dendrograma a partir de las distancias medias, y “Neighbour-Joining” ofrece el resultado en relación del grado de proximidad por lo que será más detallado. Los dos métodos generaron 2 grupos con una un soporte estadístico del 100% y con una distancia de 100 pb (se consideran válidos agrupamientos con distancias superiores a 50 pb). El UPGMA (figura 3) muestra nítidamente a las dos especies (Robledilla y alcornoque) y el “Neighbor-Joining” (figura 4) distingue dos grupos uno formado por un grupo de quejiguetas (Q14, Q9, Q6 y Q7), otro formado por los 4 alcornoques (SBA, TM, PS, AS) y un grupo de quejiguetas (Q2, Q16, Q4 y Q5). Este último grupo está muy próximo de los 4 alcornoques, aunque con un débil soporte estadístico, pues su distancia es de 10 pb.

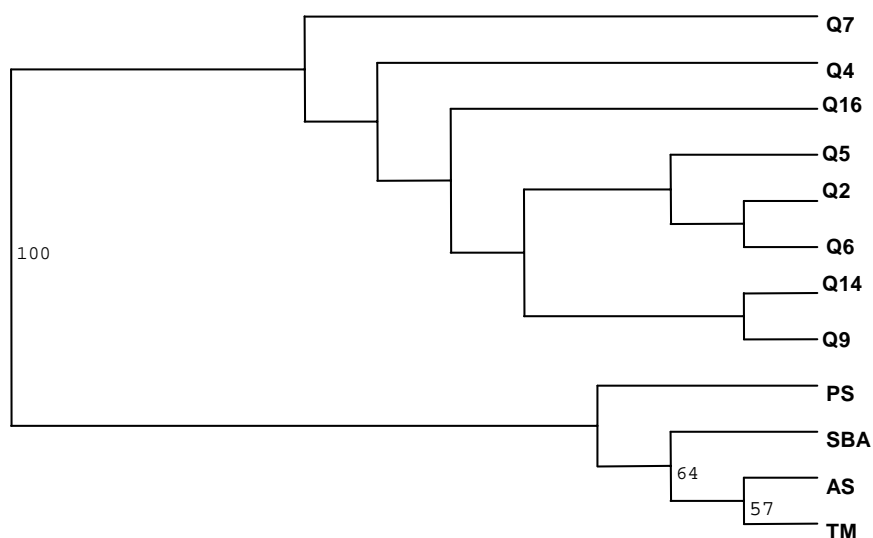


Figura 3: Dendrograma del método UPGMA

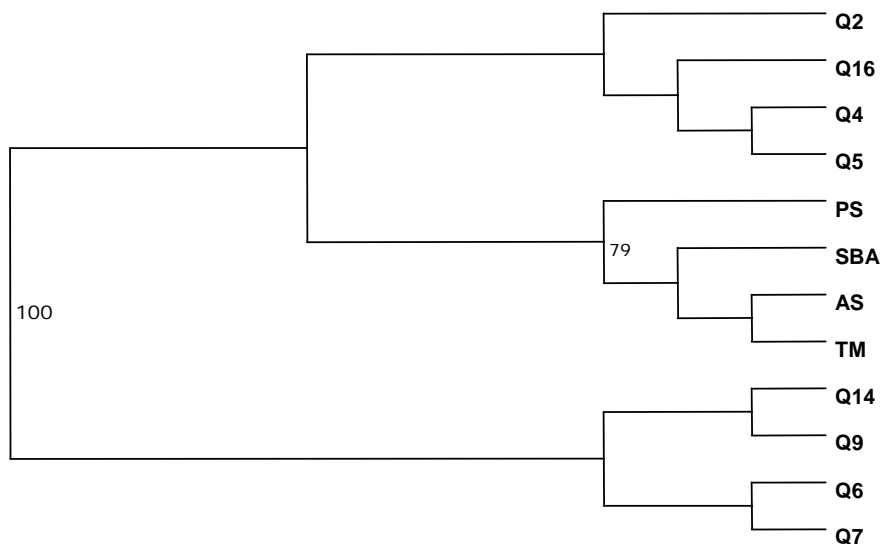


Figura 4: Dendrograma del método “Neighbour-Joining”.

DISCUSIÓN

El ensayo de estaquillado nos mostró que el carballo enano se reprodujo con algún éxito (se consiguió un porcentaje de enraizamiento en torno al 20% del total) mediante esta técnica de propagación, siendo conscientes de la problemática de los *Quercus* spp. a ser propagados vegetativamente (Hartmann *et al*, 1997, Carrasquinho de Freitas, 2000). El factor individuo fue fundamental, los individuos Q4 y Q6 destacaron sobre los otros individuos por los mayores porcentajes de valores medios por encima del 40 % en cuanto que los individuos Q8, Q9 y Q10 tuvieron un comportamiento opuesto a los dos primeros con valores que varían entre 3,3 y 6 %. El “peso” del factor individuo cuando realizamos la recolección de propágulos en campo de forma aleatoria es muy considerable puesto que no existe ningún tipo de selección presentándose así una enorme variabilidad de unos individuos a otros. Los diferentes tratamientos sobre la variación de hormona (1 y 2 % de concentración) y los tipos de sustrato (con suelo del parque o no) no presentaron diferencias significativas estadísticamente pero se aprecia una cierta preferencia de las plantas al sustrato con suelo del parque. La producción de *callus* puede ser síntoma de enraizamiento pero también se puede producir por un exceso de hormona. De ahí la falta de relación con los resultados de enraizamiento.

Los estudios de propagación sexual presentaron diferencias significativas en los dos orígenes. El hecho de esta variación es posiblemente debido a diferentes estados de maduración de las bellotas de la quejigüeta en el Parque de Arrábida y en el parque de Sintra-Cascais. Se constató que el arbusto no forma muchas bellotas por individuo y la posibilidad de propagar la robledilla por vía seminal exige un mayor acompañamiento del estadio de desarrollo de las bellotas entre los diferentes orígenes, para que la recolección sea hecha en el tiempo cierto.

Los estudios moleculares del carballo añón son susceptibles de críticas por parte del autor, como son la falta de representatividad de la muestra y la recomendable utilización de otras especies de robles con la misma región de procedencia que las quejigüetas. Son justificados por la falta de medios económicos y humanos.

Los resultados expresados en este estudio demostraron variabilidad genética entre los diferentes *Q.lusitanica*. El método “Neighbour-Joining” confirmó que 4 arbustos estaban “genéticamente próximos” al *Q.suber*. Se revisaron los cuadernos de campo para localizar los orígenes de las muestras y se comprobó que 3 de los cuatro arbustos del grupo “genéticamente próximo” pertenecían a la misma zona de muestra. Estas zonas son áreas de las partes más bajas del parque y allí encontramos al carballo enano en convivencia con el *Q.coccifera* y *Q.suber* mientras que los otros individuos se ubicaban en zonas con más altura en asociación con pinares y acaciales. Esto hace pensar en la posibilidad de que la variabilidad de las muestras en estas zonas bajas, donde la quejigüeta convive con otros *Quercus*, sea debido a una posible hibridación, en este caso con *Q.suber*. Uno de los individuos del grupo próximo a los alcornoques (Q16) se localizaba en la cota más alta del Parque, lo que contradice lo anteriormente dicho pero que puede explicarse por un posible transporte de la semilla y que además carece de representatividad por tratarse de sólo un individuo.

CONCLUSIONES

Como posibles críticas al ensayo y recomendaciones futuras se propondría evaluar otras épocas de recolección y la creación de un grupo de plantas madre para la realización de estaquillas con material rejuvenecido, lo que uniformizaría cosechas de estaquillas de quejigüeta. Se recomienda el estudio de la propagación asexual de la quejigüeta utilizando

propágalos radicales justificados por la tendencia natural de la planta a reproducirse de esta forma.

El estudio molecular de este trabajo se valora como un estudio preliminar donde se confirmó la variabilidad genética de la quejigüeta y donde se recomienda un abordaje del tema con un número representativo de muestras con diferentes orígenes de procedencia (Estudios de la población gallega del M. Pindo), incluyendo a otros *Quercus* spp., que permitan conocer las posibles hibridaciones entre ellos y asegurar la conservación de los robles ibéricos incluyendo al representante arbustivo de este estudio: El *Quercus lusitánica*. Lam.

Se espera que los resultados contribuyan en futuras investigaciones sobre la propagación de la especie, agilizando su producción con vistas a la conservación de *Quercus lusitánica* Lam.

BIBLIOGRAFÍA

BARBERO, M., QUÉZEL, P. & RIVAS-MARTÍNEZ, S. (1981). – Contribution á l'étude des groupements forestiers et préforestiers du Maroc. *Phytocoenologia* **9** (3): 311-342.

CARRASQUINHO DE FREITAS, MARÍA ISABEL (2000) “Propagação Vegetativa de Sobreiros seleccionados” *Silva Lusitana* 10(1): 17-42, 2002.

HARTMANN, H., Kester, D., Davies, F. Geneve, R., (1997). .Plant propagation Principles and Practices. Prentice-Hall. New Jersey, 6 Edición, 770pp 1997

ISTA. (2003). Internacional Rules for Seed Testing. Edition 2003. Bassersdorf, Switzerland

RIVAS-MARTÍNEZ, S., LOUSÃ, M., DÍAZ GONZÁLEZ, T.E., FERNÁNDEZ GONZÁLEZ, F. & COSTA, J.C. (1990) - La vegetación del sur de Portugal (Sado, Alentejo y Algarve) *Itinera Geobot.* **3**: 5- 126.